

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 04-021637

(43)Date of publication of application : 24.01.1992

---

(51)Int.Cl.

A61K 47/36  
B01J 20/26  
C08B 37/08  
C08F 8/30  
C08J 3/12  
G01N 30/48  
G01N 33/543  
G01N 33/548

---

(21)Application number : 02-122459

(71)Applicant : SOKEN KAGAKU KK

(22)Date of filing : 11.05.1990

(72)Inventor : MORIKAWA SHUNICHI  
HANADA KATSUHIRO  
TAKEMOTO KIYOTAKA  
ARAI TAKAAKI

---

### (54) HIGH POLYMER FINE GRAIN WHOSE SURFACE IS MODIFIED WITH CHITIN DERIVATIVE OR CHITOSAN AND ITS PRODUCTION

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain high polymer fine grains having a hydrophilic and positively ionized surface and improved in affinity to a biological high polymer by modifying the surface of high polymer fine grains with a chitin derivative or chitosan.

CONSTITUTION: High polymer fine grains having an active groups reactive with a carbodiimide compound, preferably a carboxyl latex having 0.2-10 $\mu$ m grain size is made to react with a compound expressed by the formula  $RN=C=NR'$  (R is ethyl and R' is dimethylaminopropyl or R and R' are cyclohexyl together) at ordinary temperature and successively subjected to a reaction with a chitin derivative (preferably diethylaminoethylchitin) or chitosan added at ordinary temperature. The resultant modified high polymer fine grains are used as a latex for immobilization of bioaffinitive ingredient, physiologically active substance and medicine, etc., latex for immunodiagnostic agent and endotoxin removing agent.

---

### LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

## ⑫ 公開特許公報(A) 平4-21637

⑮ Int. Cl.<sup>3</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 平成4年(1992)1月24日

A 61 K 47/36

B 01 J 20/26

B

7624-4C

L

2104-4G

H

2104-4G※

審査請求 未請求 請求項の数 5 (全4頁)

⑭ 発明の名称 キチン誘導体又はキトサンを表面に修飾した高分子微粒子並びにその製造方法

⑯ 特 願 平2-122459

⑰ 出 願 平2(1990)5月11日

⑱ 発 明 者 森 川 俊 一 埼玉県新座市栗原2-4-39  
 ⑲ 発 明 者 花 田 克 裕 埼玉県入間市仏子603-1 32-704号  
 ⑲ 発 明 者 竹 本 清 孝 埼玉県狭山市入間川2-24-27  
 ⑲ 発 明 者 新 井 孝 昭 埼玉県草加市谷塚町1203  
 ⑳ 出 願 人 綜研化学株式会社 東京都豊島区高田3丁目29番5号  
 ㉑ 代 理 人 弁理士 佐田 守雄 外2名  
 最終頁に続く

## 明 細 書

## 1. 発明の名称

キチン誘導体又はキトサンを表面に修飾した高分子微粒子並びにその製造方法

## 2. 特許請求の範囲

1. キチン誘導体又はキトサンを表面に修飾した高分子微粒子。
2. キチン誘導体がジエチルアミノエチルキチンである請求項1記載の高分子微粒子。
3. 高分子微粒子がカルボキシルラテックスである請求項1記載の高分子微粒子。
4. カルボキシルラテックス微粒子に式  $RN=C=NR'$  (式中Rはエチル基、R'はジメチルアミノプロピル基又はR、R'は共にシクロヘキシル基を示す) を有するカルボジイミド化合物を反応させ、次いでキチン誘導体又はキトサンを反応させることを特徴とするキチン誘導体又はキトサンを表面に修飾した高分子微粒子の製造方法。

5. キチン誘導体がジエチルアミノエチルキチン

ンである請求項4記載の高分子微粒子の製法。

## 3. 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

本発明は、蛋白質、核酸等の生体成分の分離精製に使用されるクロマトグラフィーの吸着材、ドラッグ・デリバリー・システム用担持体、免疫診断用ラテックスなどに有用なキチン質又はキトサンを表面に修飾させた高分子微粒子並びにその製造方法に関する。

〔従来の技術〕

従来、抗原抗体反応を利用した免疫学的臨床検査診断薬に疎水性表面を有するポリスチレンラテックスが用いられている(J. Colloid Interface Sci., 71, 350 (1979))。しかし、ポリスチレンラテックスは疎水性であるため、感作安定性、保存安定性が欠けるため、疎水性を改質するためスチレンにメタクリル酸等を共重合させた微粒子高分子の研究、開発も行われている。

〔発明が解決しようとする課題〕

上記スチレンラテックスにおいては、感作安定性、保存安定性に欠け、またメタクリル酸等を共重合させたスチレン系ラテックスでもその感作安定性、保存安定性が十分でないばかりでなく、これらスチレン系ラテックスにおいては非特異的な凝集反応を有し、抗原或は抗体を固定化した免疫学的血清、血漿、尿等の高感度、定量分析用ラテックスとしては満足するものではない。

本発明はラテックスを親水性に改良し、更に好適には正荷電性へ変換させて動物細胞、免疫蛋白質等の生体高分子に対する親和性を向上させ蛋白質、核酸等の生体成分に特異的な吸着性を有し、ドラッグ・デリバリー・システム用担持体、免疫診断用ラテックス等として有用な高分子微粒子並びにその製造方法を提供することを目的とするものである。

〔課題を解決するための手段〕

本発明等はバイオアフィニティー成分、生

導体又はキトサンを反応させることを特徴とするキチン誘導体又はキトサンを表面に修飾した高分子微粒子の製造方法である。

本発明に使用する高分子微粒子はカルボジイミド化合物と反応する活性基を有する高分子化合物であり、カルボキシルラテックスが好適である。そしてその粒径は製品の用途により適宜選択されるが、大体0.2~10 $\mu$ mが普通使用される。

この高分子微粒子に修飾されるキチン誘導体としては、水溶性のキチン誘導体、例えば、ジエチルアミノエチルキチン、カルボキシメチルキチン、ヒドロキシプロピルキチン、ヒドロキシエチルキチン、硫酸エステルキチン、リン酸エステルキチン等が好適に用いられ、本発明者等が先に発表したジエチルアミノエチルキチン〔Polymer Bulletin, 21, 13-17 (1989)〕が最も適している。キトサンもキチンを脱アセチル化したものでキチンの構成単位であるグルコサミンを有し、しかも正電

荷活性物質、凝集剤などの固定、免疫学的臨床検査診断薬、エンドトキシン除去剤として使用される高分子微粒子を開発する目的で蛋白質、酵素等の生体高分子に対して選択的な吸着性及び親和性を有するキチンの構成単位であるグルコサミンを有し、しかも好ましくは正荷電をも有するキチン誘導体並びにキトサンを高分子微粒子の表面に修飾させてドラッグ・デリバリー・システム用担持体、免疫診断薬用ラテックス等に極めて使用し易い高分子微粒子形態で提供し得ること並びにそのキチン誘導体、キトサンの高分子物への修飾方法を見出し本発明を完成した。

本発明は、キチン誘導体又はキトサンを表面に修飾した高分子微粒子である。そしてカルボキシルラテックス微粒子を式  

$$RN=C=NR'$$
(式中Rはエチル基、R'はジメチルアミノプロピル基又はR、R'は共にシクロヘキシル基を示す)で表わされるカルボジイミド化合物と反応させ、次いでキチン誘

荷を有する物質であり、本発明に好適に適用できる。

以上のように、本発明の高分子微粒子は表面にキチン誘導体又はキトサンを修飾したものであるから、表面が正荷電性及び親水性を有する微粒子と改質され、微粒子であるため表面積が大で、しかも表面の電荷密度が高くその表面活性を利用して各種の蛋白質、酵素などの生体高分子の吸着、脱着及び抗原又は抗体を固定化するイムノミクロスフェアによる診断剤として有用に使用できると共に、医薬品の副作用原因の一つである発熱物質エンドトキシンを選択的に吸着除去剤としての用途も期待される。また保水性を利用し整髪剤などの化粧品成分材料としても使用できる極めて有用なものである。

上記キチン誘導体又はキトサンを有する高分子微粒子を製造するには、カルボキシル基などの活性基を有する高分子微粒子、好適にはカルボキシルラテックス、この物質は例え

ば、スチレンモノマーを単独で重合させ核粒子とした後、アクリルアミドを添加し、2段階重合法により精製したスチレン-アクリルアミド共重合ラテックスを加水分解することにより得られる。

この高分子微粒子に水を媒体として水溶性の一般式  $RN=C=NR'$  (式中、R、R'は前記と同一意義を有す。) で表わされるカルボジイミド化合物、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド、1, 3-ジシクロヘキシルカルボジイミドを常温で反応させ、次にキチン誘導体又はキトサンを加え約12時間位常温で反応すると本発明のキチン誘導体又はキトサンを表面に修飾した高分子微粒子が得られる。

本方法におけるキチン誘導体及びキトサンの使用量は高分子のカルボキシル基に対し、キチン誘導体又はキトサンのアミノ基として1～8倍モル量が適当であり、4～8倍モル量が好適である。又、水溶性カルボジイミド

化合物の使用量は、キチン誘導体又はキトサンのアミノ基に対し0.5～1.5倍モル量が適当であり、好適には0.8～1.2倍モル量である。

次に本発明の微粒子の製造法並びに得られた物質の性質を記載する。

#### [実施例]

##### 例 1

表面電荷量89.5 $\mu$ 当量/g・ラテックス、粒径0.6 $\mu$ m、比表面積10 $\text{m}^2$ /g・ラテックスのカルボキシルラテックスの分散液(濃度0.0157g/ml) 400mlに1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩0.0108gを加え、室温で2時間攪拌する。次いで1%ジエチルアミノエチルキチン水溶液63g(ラテックス中のカルボキシル基に対してジエチルアミノエチルキチンのアミノ基として2倍モル量)を加え、12時間反応させ、次いで2M酢酸緩衝液(PH=4)を加えて2時間攪拌し得られた生成物を分別する。その後水で洗浄し、減

#### 第 1 表

実施例	WSC (g)	1%DEAE- キチン水溶液 (g)	収 量 (g)	表面電荷量 ( $\mu$ 当量/g ラテックス)	接触角 ( $\theta$ )
2	0.0216	12.6	0.50	152.8	28.7
3	0.0432	25.2	0.70	142.2	40.2

圧乾燥しジエチルアミノエチルキチン修飾ラテックス0.68gを得た。このものの表面電荷量は24.6 $\mu$ 当量/g・ラテックスであった。また、得られたラテックスの接触角( $\theta$ )は26.4であった。なお表面電荷量はコロイド滴定により測定し、接触角は自動式PH型接触角計で測定した。

##### 例 2～3

1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(WSC)及び1%ジエチルアミノエチルキチン水溶液(DEAE-キチン水溶液)を第1表に示す量加えた以外は例1と同様の操作を行い、DEAE-キチン修飾ラテックスを得た。この例の収量、表面電荷量及び接触角は第1表の通りであった。なお、1%DEAE-キチン量はラテックス中のカルボキシル基に対してDEAE-キチンのアミノ基として4倍乃至8倍モル量である。

##### 例 4～6

1%DEAE-キチン水溶液を1%キトサン水溶液に代え、WSC及び1%キトサン水溶液量を第2表に示す量を加えた以外は実施例1と同様の操作を行い、キトサン修飾ラテックスを得た。この例の収量、表面電荷量及び接触角は第2表の通りであった。なお、1%キトサン水溶液量はラテックス中のカルボキシル基に対してキトサンのアミノ基として2倍乃至8倍モル量である。

以下余白

第 2 表

実施例	WSC (g)	1%キトサン 水溶液 (g)	収量 (g)	表面荷電 量 ( $\mu$ 当量/g ラテックス)	接触角 ( $\theta$ )
4	0.0108	2.4	1.03	12.6	—
5	0.0216	4.8	0.60	20.7	46.0
6	0.0432	9.6	0.60	28.6	61.0

## 例 7

表面荷電量  $38.5 \mu$  当量/g・ラテックス、  
濃度  $0.0175 \text{ g/mL}$  のカルボキシルラテック  
ス水分散液  $40 \text{ mL}$  を用い、WSC  $0.0052 \text{ g}$ 、 $1$   
%DEAE-キチン水溶液  $3.0 \text{ g}$  (ラテックス中  
のカルボキシル基に対してDEAE-キチンの  
アミノ基として2倍モル量)を加えた以外は、  
実施例1と同様の操作を行い、DEAE-キチ  
ン修飾ラテックス  $0.81 \text{ g}$  を得た。このもの  
の表面荷電量は  $21.6 \mu$  当量/g・ラテック  
スであった。

## 例 8

$1\%$  DEAE-キチン水溶液を  $1\%$  キトサン  
水溶液  $1.1 \text{ g}$  (ラテックス中のカルボキシ  
ル基に対してキトサンのアミノ基として2  
倍モル量)に代えた以外は、例7と同様の  
操作を行い、キトサン修飾ラテックス  $0.97$   
 $\text{g}$  を得た。このものの表面荷電量は  $4.3 \mu$   
当量/g・ラテックスであった。

## 〔発明の効果〕

本発明は微粒子上に親水性好ましくは更に  
正荷電をも有するキチンの構成単位を持つ物  
質を修飾した微粒子であり、これにより生体  
高分子に対する特異の親和性を有するためバ  
イオアフィニティー成分、生理活性物質、薬  
剤などの固定、免疫診断薬用ラテックス、エ  
ンドトキシン除去剤として極めて広範囲の用  
途を有する物質を提供する有用な発明である。

特許出願人 綜研化学株式

代理人 弁理士 佐田 守 雄



## 第1頁の続き

©Int. Cl.<sup>5</sup>

C 08 B 37/08  
C 08 F 8/30  
C 08 J 3/12  
G 01 N 30/48  
33/543  
33/548

識別記号

MHA

庁内整理番号

A 7624-4C  
8016-4J  
Z 7918-4F  
P 7621-2J  
U 7621-2J  
Q 7906-2J  
B 7906-2J